

# La macroprolactina, diagnóstico diferencial de la hiperprolactinemia.

Beatriz Jiménez R<sup>(1)</sup>, Claudio Liberman G<sup>(2)</sup>, Paula Rojas G<sup>(2)</sup>, Carmen Romero O<sup>(3)</sup>

## Resumen

La macroprolactina es una isoforma de la prolactina (PRL) humana que se encuentra en escasa proporción en el plasma y que en algunos pacientes se puede encontrar anormalmente elevada, causando hiperprolactinemia, que puede presentarse como asintomática, pero también presentar sintomatología dada por el exceso de prolactina, también ha sido relacionada a adenomas hipofisiarios. Por esta causa es necesario contar con métodos confiables para su detección y medición.

El origen de esta macromolécula, patogenia, regulación hormonal e historia natural aun no está esclarecido, se postula que corresponde a un complejo antigénico IgG-PRL, con bioactividad reducida.

El Gold Standard para la determinación de la macroprolactina es la Cromatografía de filtración en gel, pero su uso se restringe a la investigación por su alto costo y tiempo de desarrollo. Existen otros métodos para su detección, siendo hasta ahora el de precipitación por Polietilenglicol el más aceptado.

## Summary

Macroprolactin is an isoform of human prolactin (PRL) existing in low doses in plasma. In some patients, prolactin can be found in higher proportion, causing hyperprolactinaemia, in asymptomatic or symptomatic form. This abnormality has been also related to hypophysis adenome, doing necessary to count on reliable methods for its detection and measurement. The origin of this macromolecule, patogenia, hormonal regulation and natural history are not even clear, an antigenic complex IgG-PRL with reduced bioactivity is proposed. The Gold Standard for determination of macroprolactin is gel filtration chromatography, but its high costs and slowness restricts its use to research. Other methods for its detection already exist, the Polyethylene glycol precipitation is being mostly accepted.

<sup>(1)</sup> Médico Becado Sección Endocrinología.

<sup>(2)</sup> Médico Sección Endocrinología. Departamento de Medicina.

<sup>(3)</sup> Bioquímico Jefe Laboratorio Endocrinología y Biología de la Reproducción.

La prolactina humana (PRL) es una hormona hipofisiaria del tipo de las glicoproteínas. Se han identificado al menos tres isoformas de esta hormona por el método de cromatografía de filtración en gel que permite separar moléculas de diferente peso molecular.

La forma predominante es la PRL little o prolactina monomérica (80%) de 23 KDa, que es biológicamente activa. Las otras dos formas circulantes en menor proporción y de mayor tamaño son la prolactina dimérica o PRL big (5-20%) de 50 KDa, biológicamente inactiva y la macroprolactina o PRL big-big (0.5-5.0%) de 150-170 KDa., de baja actividad biológica<sup>(1-9)</sup>.

Los niveles séricos de PRL se pueden incrementar en condiciones fisiológicas, patológicas y secundariamente a fármacos. En estos casos la forma circulante que predomina es la PRL monomérica, pero en algunos pacientes hiperprolactinémicos la PRL big-big o macroprolactina puede estar en mayor proporción.

A pesar de numerosas investigaciones acerca de macroprolactina aún se desconoce su causa y patogenia. La mayoría de las investigaciones han demostrado que la macroprolactina consiste en un complejo antigénico de prolactina monomérica con unión covalente a IgG, pero aun no es posible descartar otro tipo de molécula proteica involucrada en su naturaleza, como polímeros de PRL monomérica unida por uniones covalentes y no covalentes, ya que no en todos los estudios se encuentra la presencia de anticuerpos<sup>(4, 10-17)</sup>.

El mecanismo de generación de auto anticuerpos es secundario a cambios en la antigenicidad de la PRL debido a susceptibilidad genética y ambiental que pueden alterar la inmunoreactividad del huésped. En un reciente estudio, Hattori<sup>(18)</sup> determinó que la subclase de IgG 4 está implicada en pacientes con macroprolactina.

La respuesta de esta subclase IgG 4 ocurre en estimulación antigénica crónica y juega un rol importante en las condiciones alérgicas.

El mismo autor postula que los cambios antigénicos posibles en la molécula de PRL pituitaria humana son cambios postransduccionales como la fosforilación y desfosforilación parcial en serina, cuando es secretada a la circulación. Esto es avalado por electroforesis 2D que identifica al menos tres isoformas de PRL humana según el punto isoeléctrico, estas isoformas difieren entre sueros hiperprolactinémicos con y sin anticuerpos antiPRL.

Con respecto al lugar de síntesis de macroprolactina, aun difiere en los diversos estudios, se ha tratado de demostrar el origen periférico de estos anticuerpos anti-PRL por la presencia de patrones normales de elusión de prolactina en la cromatografía de cultivos de tumores hipofisarios de pacientes macroprolactinémicos<sup>(10)</sup>. Otros autores plantean el origen tumoral de esta molécula en pacientes con adenomas hipofisarios, considerando un estudio donde esta asociación ha sido confirmada histológicamente en tres pacientes. Las características clínicas y biológicas de los prolactinomas asociados o no a macroprolactina fueron similares<sup>(19)</sup>.

La bioactividad de la macroprolactina in vivo es reducida y los pacientes que poseen este complejo no demuestran completamente los signos y síntomas clásicos de la hiperprolactinemia verdadera. Sin embargo, es sólo un poco menos bioactiva in vitro que la PRL monomérica<sup>(20,21)</sup>.

La menor bioactividad in vivo se debería a la incapacidad del complejo autoanticuerpo unido a PRL para atravesar el endotelio vascular debido a su tamaño y haría que su eliminación sea lenta, prolongando su vida media plasmática, produciendo así una aparente hiperprolactinemia<sup>(15-17)</sup>.

El que algunos pacientes macroprolactinémicos presenten síntomas derivados del exceso de prolactina, se debería probablemente a la bioactividad de la fracción monomérica que puede estar simultáneamente elevada, lo cual explicaría la mayoría de los síntomas observados en estos casos. Esta fracción monomérica sería susceptible a tratamiento con agonistas dopaminérgicos. Asimismo, la macroprolactina podría proveer de prolactina monomérica a la circulación al presentar disociaciones intermitentes de la unión a IgG<sup>(6,20,21)</sup>. Sin embargo el complejo macroprolactínico es estable in vitro y no es fácilmente dissociable, por lo que es difícil de estudiar.

Por estas razones un paciente con hiperprolactinemia puede presentar una gran variabilidad en la expresión clínica y en el análisis bioquímico de su condición, además de una respuesta terapéutica no siempre completa, planteándose como explicación la presencia de isoformas de la hormona y alteraciones moleculares de la prolactina o de su receptor. En una gran población de pacientes hiperprolactinémicos ha sido investigada la prevalencia de la macroprolactinemia que se reporta en rangos de 10 a 46%<sup>(10,22,23)</sup>. Esta prevalencia es coincidente con la de la hiperprolactinemia idiopática, al parecer debido al aumento de macroprolactina.

Hattori et al<sup>(13)</sup> han descrito, la presencia de macroprolactina en el 2,7% de los embarazos; el 4,8% en hiperprolactinemia secundaria a drogas y en el 1,3% de la población sin hiperprolactinemia.

En la población general, la incidencia de la macroprolactina es de 0,2-0,3%. Se puede encontrar en ambos sexos, pero es más frecuente en la mujer en una relación de 16:1<sup>(11,12)</sup>. También ha sido reportada en niños y adolescentes como hiperprolactinemia asintomática.

La existencia de la forma macro de la prolactina se conoce desde hace mucho tiempo, pero su relevancia en el diagnóstico y la terapia de las hiperprolactinemias no está clara y aún es discutible<sup>(24)</sup>.

El primer caso fue reportado por Whittaker et al. en 1981 en un paciente que a pesar de tener hiperprolactinemia carecía de síntomas como galactorrea, amenorrea o infertilidad<sup>(25)</sup>. Clínicamente, se debe sospechar esta condición cuando se encuentra hiperprolactinemia con escasos signos de actividad hormonal asociada. Esta molécula clásicamente se presenta en pacientes hiperprolactinémicos que se presentan escasa sintomatología y sin evidencias radiológicas de tumor pituitario; sin embargo, en estudios clínicos recientes se ha constatado en mujeres macroprolactinémicas la presencia de galactorrea (46%), desórdenes menstruales (39%), infertilidad (29%)<sup>(10,12,20)</sup>, y en varones impotencia y pérdida de libido<sup>(11)</sup>.

Asimismo, la macroprolactinemia también ha sido asociada a prolactinomas, aunque en bajo porcentaje<sup>(10,19,22)</sup>. Es así como el 1,5 – 2,5% de las masas sellares son encontradas en pacientes con macroprolactina<sup>(26)</sup>. Es por estas razones que la macroprolactinemia no puede ser considerada como un artefacto bioquímico, al menos en pacientes sintomáticos.

Hay evidencias que la macroprolactina no está afectada al feed-back de secreción de PRL pituitaria o la secreción de gonadotropinas como la PRL monomérica. En pacientes con hiperprolactinemia debida a macroprolactina la respuesta de la PRL monomérica pituitaria a antagonistas dopaminérgicos es similar a la de la población general<sup>(27)</sup>.

Las proporciones séricas de la macroprolactina a largo plazo son estables, en un estudio de 25 pacientes seguidos por 5 años, en ninguno se observó desaparición de macroprolactina,

hubo cambios menores que no influyeron en su clasificación, asimismo el tratamiento con agonistas dopaminérgicos no influyó en la relación entre la macroprolactina y la prolactina total<sup>(28)</sup>.

La medición de prolactina es un examen frecuente en la práctica clínica y no es inusual encontrar valores anormalmente elevados en pacientes asintomáticos, para evitar la repetición de los exámenes, estudios de imágenes e incluso terapias innecesarias con agentes dopaminérgicos debe sospecharse la presencia de macroprolactina y es, en estos casos, cuando se solicita al laboratorio clínico la detección de la macromolécula. El detectarla como la causa de una hiperprolactinemia es importante debido a que reorienta el diagnóstico, evita una mala terapéutica y aleja la posibilidad de errores técnicos por parte del laboratorio<sup>(24,29-33)</sup>.

La medición de la prolactina tiene un alto grado de dispersión, ya que esta hormona presenta una reactividad variable según los diferentes anticuerpos utilizados, además estos tienen distintos grados de afinidad con la macroprolactina lo que introduce una gran variabilidad en los distintos ensayos comerciales. Es fundamental que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia, ya que los diversos inmunoensayos, dan una gran variabilidad en los resultados interlaboratorios<sup>(4-5,30,34-37)</sup>.

Lo anterior sugiere que no hay un método de medición de prolactina monomérica que dé valores reales en presencia de macroprolactina.

Los estándares recomendados para la investigación de la macroprolactina son: entender que esta molécula es una causa de hiperprolactinemia y es esencialmente inactiva. Todos los laboratorios deben conocer el grado de afinidad del anticuerpo, con la macroprolactina,

cuando se utiliza un inmunoanálisis para la detección de PRL total. Los laboratorios deben contar con un método validado de identificación de macroprolactina; cuando se informa la presencia de macroprolactina se debe señalar si la PRL monomérica está normal o aumentada.

La macroprolactina puede ser investigada por varios métodos: El "Gold Standard" para la determinación de esta macromolécula es la cromatografía de filtración en gel (GFC) pero esta técnica consume mucho tiempo, es de alto costo y no está disponible en los laboratorios clínicos de rutina.

El método de precipitación con Polietilenglicol (PEG), cuya característica es la precipitación inespecífica de proteínas de alto peso molecular; está ampliamente validado para la mayoría de los equipos automatizados utilizados en la actualidad y es el más usado como método de screening para macroprolactina. En comparación con la cromatografía en gel, es un método de detección simple, rápido, reproducible y de bajo costo que es <sup>(24,31,36, 37)</sup>.

Internacionalmente se acepta que un porcentaje de recuperación de prolactina posterior a la precipitación con PEG mayor de 60% confirma la presencia de PRL monomérica, mientras que uno inferior a 40% es muy sensible para detectar cantidades significativas de Macroprolactina<sup>(1,16,35,38,39)</sup>. En los casos de recuperación entre 60-40% se requiere confirmación por cromatografía para verificar la presencia de la Macroprolactina.

Actualmente se prueban otros métodos para detectar macroprolactina además del PEG, ya que este puede tener significativas interferencias en algunos inmunoensayos, estos métodos son inmunoprecipitación por proteína G, A o anti IgG humana, de estos la inmunoprecipitación por proteína G parece ser una alternativa mas económica y podría

ayudar a resolver los casos en zona gris de los test de PEG.

La ultrafiltración en la detección de macroprolactina como procedimiento alternativo, en algunos estudios ha demostrado variabilidad respecto a la GFC con un coeficiente de correlación inferior a los sueros tratados con PEG<sup>(30,34)</sup>.

El Laboratorio de Endocrinología y Biología de la Reproducción del Hospital Clínico de la Universidad de Chile se ha realizado durante este año, la validación del método de detección de macroprolactina por precipitación con Polietilenglicol para el equipo de quimioluminiscencia Vitros-Eci, encontrándose un bajo coeficiente de variación intra e inter ensayo, siendo así un método reproducible. Además se obtuvo resultados concordantes con la literatura internacional. Esto es un aporte para nuestro hospital y para una gran cantidad de laboratorios que utilizan este mismo equipo a lo largo del país.

## Referencias

1. Documentación Roche. Prolactin (electrochemiluminescence immunoassay) 1775952, 100 test.
2. DeGroot LJ, Jameson. Endocrinology 4<sup>o</sup> edition. 2001, Editorial W.S.Saunders Company, pp: 209-20.
3. Williams textbook of Endocrinology. Wilson & Foster (8<sup>o</sup> edition).1992. Editorial W.S.Saunders pp: 163-164; 226-8.
4. Gilson G, Schmit P, Thix J, Hoffman JP, Humbel RL. Prolactin results for samples containing macroprolactin are method and sample dependent. Clin Chem; 2001; 47:331-2
5. Schneider W, Marcovitz S, Al-Shammari S, Yago S, Chevalier S. Reactivity of macroprolactin in common automated immunoassays. Clin Biochem 2001;34:469-73.
6. Romero C, León J, González O, importancia de las isoformas de la Prolactina sobre la función ovárica en mujeres hiperprolactinémicas. Rev Chil Obstret Ginecol 1993; 58(6): 465-9.
7. Scaglia H, Chervin A, Allami C. Sociedad Argentina de Endocrinología y Metabolismo.2002. Vol. 39 N° 1.
8. Cattaneo F, Kappeler D, Muller B. Macroprolactinaemia, the major unknown in the differential diagnosis of hiperlactinaemia.Swiss Med Wkly 2001; 131: 122-6.
9. Strachan M.W, Wie Leng Teoh, Don-Wauchope AC, Seth J, Stoddart M and Beckett G J. Clinical and radiological features of patients with Macroprolactinaemia. Clinical Endocrinology 2003; 59: 339-46.
10. Vallete-Kasic S, Morange-Ramos I, Selim A, Gunz G, Morange S, Enjalbert A, Martin P, Jaquet P, Brue T. Macroprolactinemia revisited a study on 106 patients. J Clin Endocrinol Metab 2002; 87:581-8.
11. Leite V, Cosby H, Sobrinho LG, Fresnoza A, Santos MA, Friesen HG. Characterization of big-big prolactin in patients with hiperprolactinoma. Clin Endocrinol 1992; 37: 365-72.
12. Suliman A M., Smith T, Gibney J, McKenna T. Frequent Misdiagnosis and Mismanagement of Hiperprolactinemic Patients before the introduction of Macroprolactin Screening: Application of a New Strict Laboratory Definition of Macroprolactinemia. Clinical Chemistry 2003;49; 9 1504-9.
13. Hattori N. The frequency of macroprolactinemia in pregnant woman and the heterogeneity of its etiologies. J Clin endocrinol Metab 1996 82: 586-90.
14. Hattori N, Ishihara T, Ikebuko K, Moridera K, Hino M, kurahachi H. Autoantibody to human prolactin in patient with idiopathic hyperprolactinemia. J Clin Endocrinol Metab. 1992; 80: 2342-6.
15. Hattori N, Inagaki C 1997 Anti-prolactin auto antibodies cause asymptomatic hyperprolactinemia: bioassay and clearance studies of PRL- immunoglobulin G complex. J Clin Endocrinol Metab 82: 3107-10.
16. De Schepper J, Schiettecatte J, Velkaniere B, Blumenfeld B et al. Clinical and biological characterization of Macroprolactinemia with and without PRL-IgG complexes. Eur J Endocrinol 2003; 149: 201-7.
17. Lindstedt G 1994 Endogenous antibodies against prolactin: a "new" cause of hyperprolactinemia. Eur J Endocrinol 1994; 130: 429-32.

18. Hattori Naoki, Ikekubo K, Nakaya Y, Kitagawa K, Inagaki C. Immunoglobulin G subclasses and prolactin isoforms in macroprolactinemia due to antiPRL autoantibodies. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 3036-44.
19. Mounier Ch, Trouillas J, Claustrat B, Duthel R, Estour B. Macroprolactinaemia associated with prolactin adenoma. *Human Reproduction* 2003; Vol.18, N° 4 853-7.
20. Olukoga AO. Macroprolactinemia is clinically important. *The Journal Endocrinology & Metabolism* 2002; 87(10): 4833-4.
21. Kavanagh L, Smith TP, McKenna TJ Bioactivity of macroprolactin in vitro. *Endocrine Abstracts* 9: 45.
22. Kleinberg DL, Noel GL, Frantz AG 1977 galactorrhea: a study of 235 cases, including 48 with pituitary tumors. *N Engl Med* 296: 589-600.
23. Hauache O, Rocha A, Maia Jr A, Maciel R, Vieira j, Screening for Macroprolactinaemia and pituitary imaging studies. *Clin Endocrinol Metab* 2002; 57: 327-31.
24. Fahie-Wilson MN, Soule SG. Macroprolactinemia: contribution to hyperprolactinaemia in a district hospital and evaluation of a screening test based on precipitation with polyethylen glycol. *Ann Clin Biochem* 1997; 34:252-8.
25. Whittaker PG, Wilcox T, Lind T Maintained fertility in a patient with hiperprolactinemia due to big big prolactin. *J Clin Endocrinol Metab* 1981 53: 863-6.
26. Aaron DC, Howlett TA Pituitary incidentalomas. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2000; 29: 205-21.
27. Fahie-Wilson MN, Ellis AR, Macroprolactin- What should we do about? Proceedings of the United Kingdom National External Quality Assurance Écheme meeting. London: Association of Clinical Biochemists. 1998; 3:121-3.
28. Rodríguez Espinoza J. Cambios en las proporciones de la macroprolactina durante el seguimiento de pacientes macroprolactinemicos. *Química Clínica* 2004. 23; (3).
29. Cabrera V, Martínez D, Rodríguez J C, Chapé A. Aislamiento y caracterización de proteínas unidas a prolactina en el plasma de pacientes hiperprolactinemicos. *Rev Cubana Endocrinol* 1998; 9(1):16-28.
30. Sapin R, Kertesz G. Macroprolactin Detection by Precipitation with Protein A- Sepharose: A rapid Screening Method Compared with Polyethylene Glycol Precipitation. *Clin Chem* 2003; 49(3): 502-5.
31. Leslie H, Courtney CH, Bell PM, Hadden DR, McCance DR, Ellis PK, Sheridan B, Atkinson AB. Laboratory and clinical experience in 55 patients with macroprolactinemia identified by a simple polyethylene glycol precipitation method *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86(6): 2743-6.
32. Fahie-Wilson MN, Ellis AR, Seth J. Macroprolactin- a major problem in immunoassays for prolactin. *Clin Chem* 1999; 45(Suppl 6): A 83.
33. Yuen YP, Lai JP, Au KM, Chan AY, Mak TW. Macroprolactin-α cause of pseudohyperprolactinaemia. *Hong Kong Med J.*2003; 9(2): 119-21.
34. Kavanagh L, Smith TP, Mackenna TJ. The value of ultrafiltracion in the detection of macroprolactin. *Endocrin Abstracts* 9 p52.
35. John R, McDowell IFW, Scanlon MF, Ellis AR. Macroprolactin Reactivities in Prolactin Assays: An Issue for Clinical and Equipment Manufacturers. *Clin Chem* 2000; 46: 884-5.
36. Schlechte J A.. The Macroprolactin problem. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87 (12): 5408-5409.
37. Fahie-Wilson MN. Poliethylene Glycol Precipitation as Screening Method for Macroprolactinemia. *Clin Chem* 1999; 45: 436-7.
36. Olukoga AO, Kane JW. Macroprolactinemia: validation and application of polyethylene glycol precipitation as a screening method for macroprolactinemia. *Clin Chem* 1998; 44:1758-9.
37. Berlitz FA. Screening for macroprolactin on VITROS Eci and INMULITE 2000. *Clin Chem* 2002; 48 (Suppl 6): A 115
38. Hauache O, Rocha A, Maia Jr A, Maciel R, Vieira j, Screening for Macroprolactinaemia and pituitary imaging studies. *Clin Endocrinol Metab* 2002; 57: 327-31.
39. Strachan MW, Wie Leng Teoh, Don-Wauchope AC, Seth J, Stoddart M and Beckett G J. Clinical and radiological features of patients with Macroprolactinaemia. *Clinical Endocrinology* 2003; 59: 339-46.